Evaluación química y farmacológica de plantas medicinales para su uso como ingredientes farmacéuticos activos herbarios en los laboratorios de producción local

Autoría principal

Yanelis Saucedo Hernández¹, Liliana Vicet Muro¹, Elisa Jorge Rodríguez¹, Dulce González Mosquera¹.

Otros autores

Dr. Luis R. Bravo Sánchez¹, Dra. Mirtha Mayra González Bedia¹, Dra. Hilda M González San Miguel⁵, Dra. Gretel Villanueva Ramos³, Dr. Armando Cuellar Cuellar⁵, Dr. Antonio Iraizoz Colarte⁵.

Colaboradores

MSc. Dany Siverio Mota¹, MSc. Yannarys Hernández Arteaga¹, MSc. Miguel Ángel Alba¹, MSc. Mario Sueiro¹, MSs. Nancy Bernal Pérez¹, MSc. Arellys López Sacerio¹, Dr. Erelvio Olazabal², Dr. Gustavo Sierra González⁴, Dr. Prof. Peter De Witte⁶, Dr. Win Dejaem⁶, Dr. Luc Peters⁹, Dra. Sandra Apers⁹, Dr. Jean Paul Remon⁸, Dra. María Bofill Cárdenas¹⁰, Téc. Freisman Blanco¹⁰, Dr. Ricardo Grau Ábalos¹¹, MSc. Luis Torres Gómez⁵.

Entidad ejecutora principal

¹Departamento de Farmacia. Facultad de Química-Farmacia. Universidad Central de Las Villas “Marta Abreu”.

Entidades participantes

²Centro de Bioactivos Químicos. Universidad Central de Las Villas.

³Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Química Farmacia. Universidad Central de las Villas.

⁴Instituto Finlay. Ciudad de la Habana.

⁵Instituto de Farmacia y Alimentos. La Lisa. Universidad de la Habana.

⁶Departamento de Diseño molecular y síntesis. Celestijnenlaan. 200f. Bus 02404, B-3001 Heverlee. Universidad Católica de Leuven, Bélgica.

⁷Laboratorio de Farmacognosia y Análisis Farmacéutico, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Antwerp, Universiteitsplein 1, 2610 Antwerp, Belgium.

⁸Departamento de Tecnología farmacéutica. Universidad de Gent, Bélgica.

⁹Universidad de Amberes, Bélgica.

¹⁰Centro de Toxicología, Villa Clara (CENTOX).

¹¹Centro de estudios de Informática.

Autor para correspondencia

Dra. Yanelis Saucedo Hernández.

Departamento de Farmacia. Facultad de Química-Farmacia. Universidad Central de Las Villas “Marta Abreu”.

Carretera a Camajuaní Km 5.5, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

Dirección Particular: Calle 8va, entre 9 y 10. Reparto Camacho. Santa Clara. Villa Clara.

ysaucedo@uclv.edu.cu

Aporte científico de cada autor al resultado

- ✓ Dra. **Yanelis Saucedo Hernández** (25%): Su participación fue importante en la concepción de la estrategia investigativa desarrollada por el grupo multidisciplinario y fue redactora principal del presente informe. Participó activamente en la realización del trabajo experimental a nivel de laboratorio con la planta *Parthenium hysterophorus* (escoba amarga) y en la interpretación y análisis de los resultados obtenidos relacionados con la actividad antiparasitaria de la planta. Desarrolló los estudios de preformulación de la especie con vistas a su uso como ingrediente farmacéutico activo herbario. Es autora principal de 7 artículos científicos publicados en revistas de la Web of Science.
- ✓ Dra. **Liliana Vicet Muro** (25%): Su participación fue muy importante en la concepción de la estrategia investigativa desarrollada con la planta *Capraria biflora* L. (esclaviosa). Ejecutó experimentos de laboratorio relacionados con la evaluación fitoquímica y farmacológica (analgésica, diurética, antiinflamatoria) de la especie vegetal. Asesoró los estudios de preformulación de *Capraria biflora* L con vistas a su empleo como ingrediente farmacéutico activo herbario. Es la autora principal de 10 de las publicaciones derivadas del trabajo y el redactor del presente informe.
- ✓ Dra. **Elisa Jorge Rodríguez** (25%): Asesoró la concepción de la estrategia investigativa aplicada en el trabajo del grupo multidisciplinario. Participó activamente en la realización del trabajo experimental a nivel de laboratorio con la semilla de calabaza (*Cucurbita moschata*). Realizó experimentos relacionados con la evaluación química, analítica de la semilla. Desarrolló los estudios de preformulación para la obtención de un ingrediente farmacéutico activo a ser utilizado en laboratorios de producción local. Es la autora principal de 6 de las publicaciones derivadas del trabajo.
- ✓ Dra. **Dulce González Mosquera** (25%): Dirigió la concepción de la estrategia investigativa aplicada en el trabajo con la especie *Boldoa purpurascens* (nitro blanco). Ejecutó experimentos de laboratorio centrados en la evaluación fitoquímica, farmacológica y toxicológica de la planta. Asesoró los estudios de preformulación de *Boldoa purpurascens*, Cav con vistas a su empleo como ingrediente farmacéutico activo herbario. Es la autora principal de 6 de las publicaciones derivadas del trabajo.

Resumen

En la terapéutica actual se describen enfermedades de alta repercusión a nivel internacional que constituyen problemas de salud aún sin resolver, como los procesos dolorosos, inflamatorios, retención urinaria y las enfermedades parasitarias. El Departamento de Farmacia de la Facultad de Química Farmacia, perteneciente a la UCLV, centra sus investigaciones en este campo, con el objetivo de mejorar la calidad de los fitofármacos usados por la población contra dichas afecciones, así como la obtención de ingredientes farmacéuticos activos que permita la obtención nuevas formas farmacéuticas biodisponibles, estables y eficaces. Se demostró el efecto diurético y analgésico de extractos acuosos de *Boldoa purpurascens* (nitro blanco) y de *Capraria biflora* L. (esclaviosa) mediante ensayos preclínicos y se evaluó la actividad antiparasitaria en modelos experimentales in vitro de extractos obtenidos a partir de *Parthenium hysterophorus* (escoba amarga) y *Cucurbita moschata* (semilla de calabaza), respaldado por la evaluación fitoquímica de las especies y la caracterización de metabolitos aislados que tributan a las acciones farmacológicas citadas. Se exponen, por primera vez, los estudios de preformulación de las cuatro plantas evaluadas y se desarrollaron ingredientes activos herbarios con la calidad exigida de

acuerdo a estándares internacionales, lo cual permita la elaboración de formas farmacéuticas de uso diurético, analgésico y antiparasitario a escala de laboratorios de producción local. La metodología científica de trabajo propuesta para las plantas medicinales evaluadas, constituye una guía a seguir por los especialistas del sector de la salud en el desarrollo de otras investigaciones a partir de plantas medicinales cultivadas en Cuba.

Comunicación Corta

2.1. Introducción.

El Ministerio de Salud Pública (MINSAP), en coordinación con centros de investigación y universidades del país, estimula y dirige el desarrollo de investigaciones sobre plantas medicinales, con el objetivo de obtener formas farmacéuticas que cumplan con los requerimientos tecnológicos establecidos para lograr preparados biodisponibles. El desarrollo de medicamentos herbarios resulta atractivo y promisorio, si se tiene en cuenta que enfermedades tales como la los procesos inflamatorios, dolorosos, la hipertensión arterial y la parasitosis intestinal constituyen hoy en día problemas de salud aún por resolver.

En este escenario se inserta el Departamento de Farmacia, perteneciente a la Facultad de Química Farmacia de la Universidad Central de las Villas, con más de 20 años de experiencia en la investigación con plantas medicinales. Un equipo multidisciplinario integrado por especialistas en el campo fitoquímico, tecnológico, analítico y farmacológico, se proyecta hacia la búsqueda y desarrollo de nuevos ingredientes activos con potencialidades terapéuticas como las anteriormente citadas y la evaluación farmacológica “in vitro e in vivo” de extractos obtenidos a partir de dichas plantas medicinales. Como resultado de las investigación propuesta se persigue realizar propuestas para mejorar la calidad de los fitofármacos usados por la población contra enfermedades de alta incidencia en la población mundial (hipertensión arterial y enfermedades cardiovasculares, procesos inflamatorios agudos y crónicos y enfermedades parasitarias como la malaria, leishmaniasis, tripanosomiasis y helmintiasis), así como la obtención de materias primas herbarias con la calidad y el rigor científico que permita la obtención nuevas formas farmacéuticas biodisponibles, estables y eficaces a ser empleadas en el tratamiento de dichas enfermedades.

Las especies *Boldoa purpurascens* (nitro blanco), *Capraria biflora* (esclaviosa), *Cucurbita moschata* (semilla de calabaza) y *Parthenium hysterophorus* (escoba amarga), constituyen plantas investigadas desde hace más de 10 años en el Departamento de Farmacia de la UCLV teniendo en cuenta su uso en la medicina tradicional cubana, el nitro blanco y la esclaviosa por su acción diurética y las dos restantes como antiparasitarias. Sin embargo dichas plantas carecen de Ingredientes Farmacéuticos Activos (IFA) estandarizados con estudios desde el punto de vista químico y farmacológico que validen ese uso tradicional, no existen estudios precedentes de preformulación, no se refieren en la bibliografía técnicas analíticas para aplicar en el control de calidad y realizar estudios de la estabilidad y por tanto no existen en las farmacopeas vigentes ingredientes activos y formulaciones a partir de las mismas.

Teniendo en cuenta los argumentos planteados se requiere profundizar en la evaluación química, farmacológica, tecnológica y analítica de las plantas citadas, lo cual permita obtener desde el punto de vista galénico ingredientes activos herbarios para su empleo en los laboratorios de producción local de todo el país, con vistas a la posterior elaboración de formas farmacéuticas. La evaluación químico farmacológica presentada es totalmente novedosa, avalando el estudio químico las acciones farmacológicas reportadas. Objetivo General: Obtener y caracterizar ingredientes farmacéuticos activos herbarios con potencialidades como, analgésicos, diuréticos y antiparasitarios con vistas a la obtención de formas farmacéuticas a escala de laboratorios de producción local de todo el país.

Objetivos específicos: 1. Evaluar desde el punto de vista fitoquímico los extractos obtenidos a partir de las especies botánicas con utilidad analgésica, antiinflamatoria, diurética y antiparasitaria. 2. Identificar mediante técnicas cromatográficas y espectroscópicas los metabolitos de interés terapéutico presentes en las plantas que justifiquen las acciones propuestas. 3. Evaluar mediante ensayos preclínicos (in vitro y/o in vivo) el efecto analgésico, diurético y antiparasitario de las especies investigadas. 4. Realizar estudios de preformulación de las plantas evaluadas, para su uso en la elaboración de formas farmacéuticas sólidas.

2.2. Desarrollo.

La metodología científica de trabajo propuesta para las plantas medicinales evaluadas, constituye una guía a seguir por los especialistas en este campo en el desarrollo de otras investigaciones a partir de plantas medicinales cultivadas en Cuba con potencialidades como ingredientes farmacéuticos activos herbarios. El trabajo de investigación propuesto, se estructuró en dos etapas:

1. Evaluación química de plantas medicinales para su uso como ingredientes farmacéuticos activos herbarios.
2. Evaluación farmacológica de plantas medicinales para su uso como, ingredientes farmacéuticos activos herbarios.

2.2.1. Evaluación química de las plantas estudiadas para su uso como ingredientes farmacéuticos activos herbarios.

Atendiendo a las recomendaciones de la OMS se desarrolló la evaluación química de cuatro plantas medicinales: *Boldoa purpurascens* (nitro blanco), *Capraria biflora* (esclaviosa), *Parthenium hysterophorus* (escoba amarga) y *Cucurbita moschata* (semilla de calabaza). Dichas especies poseen un amplio uso tradicional, pero carecen en la literatura de estudios referidos a su composición química, lo cual permita justificar sus acciones farmacológicas y esta información contribuiría a conformar el expediente de registro para el uso de las mismas en la medicina cubana. A continuación se describe la evaluación química de cada planta:

Evaluación química de *Boldoa purpurascens* (nitro blanco).

Se informa para la especie mediante técnicas de reconocimiento cualitativo, la presencia de triterpenoides y/o esteroides, saponinas, fenoles y/o taninos, ácidos grasos, compuestos reductores y compuestos con grupos amino. El fraccionamiento y análisis por espectroscopía RMN 1H y 13C y el sistema ESI-MS, permitieron conocer la presencia de tres nuevos flavonoides. Dos de los flavonoides aislados mostraron efectos diurético y analgésico comparables con los fármacos de referencia, lo cual sugiere que dichos metabolitos contribuyen a las acciones descritas.

Evaluación química de *Capraria biflora* (esclaviosa).

El análisis cromatográfico y espectroscópico de los extractos de la planta por RMN 1H y 13C permitió identificar la presencia de naringenina, derivados metoxilados de luteolina y apigenina, ácido 7-O- β -apigeninglucurónico, feoforbide, ácido laúrico, palmítico y hendecanoico y el manitol. Estos metabolitos informados por primera vez para la especie, contribuyen a los efectos farmacológicos comprobados.

Evaluación química de *Parthenium hysterophorus* (escoba amarga).

Se desarrolló un procedimiento de extracción y purificación de partenina (metabolito de interés) para su uso como patrón de trabajo. Se realizó su caracterización físico química, espectroscópica (IR, RMN H+ y Masa) y determinación de pureza (98,9%), teniendo en cuenta su no comercialización con en el mercado internacional. Se propone la monografía analítica para garantizar el control de la calidad del polvo, no descrita en las farmacopeas actuales.

Evaluación química de *Cucurbita moschata* (semilla de calabaza).

Se procedió al aislamiento de la cucurbitina (aminoácido mayoritario) de la especie. Dicha metodología incluyó una extracción en medio ácido y un tratamiento con resina intercambiadora. El producto purificado se caracterizó mediante su punto de descomposición, CCD y la espectroscopía UV, IR y determinación de su pureza (98,26%). Se comparó el procedimiento tradicional para la obtención de polvo con una nueva metodología con la obtención de dos productos (aceite y testa) de interés farmacéutico y para la nutrición animal, respectivamente. Se propone la monografía analítica para garantizar el control de la calidad del polvo, no descrita en las farmacopeas actuales.

2.2.2. Evaluación farmacológica de las plantas estudiadas

Teniendo en cuenta el uso tradicional de las plantas estudiadas se aplicaron ensayos farmacológicos descritos en la literatura para comprobar las acciones más relevantes tanto en metabolitos aislados de la plantas como en extractos obtenidos de las mismas. A continuación se describen los resultados obtenidos para cada planta:

Evaluación farmacológica de *Boldoa purpurascens* (nitro blanco).

Se demostró el poderoso efecto diurético del extracto acuoso y se determinó la dosis efectiva en ratas del extracto acuoso (5%). Se corroboró que el extracto no presenta toxicidad ni es genotóxico a ninguna de las dosis evaluadas.

Evaluación farmacológica de *Capraria biflora* (esclaviosa).

Se demostró la actividad diurética y analgésica del extracto acuoso de la planta que resultó significativamente superior a los controles positivos. El extracto no es un potente excretor del ion K⁺, lo que constituye una ventaja respecto a la furosemida. El extracto acuoso manifestó propiedades analgésicas, lo cual sugiere su uso en los dolores leves. Los estudios de toxicidad aguda comprobaron que a dosis de 2000mg/Kg no se manifestaron signos tóxicos ni mortalidad.

Evaluación farmacológica de *Parthenium hysterophorus*, Linn (escoba amarga).

Se corroboró la actividad antihelmíntica del extracto acuoso (5, 10 y 15%) de la planta, al emplear como modelo experimental *Lombricus terrestris* (lombrices de tierra) y en *Ascaridia galli*. Los estudios desarrollados en modelos experimentales "in vitro" en *fasciolas* bovinas adultas extraídas del hígado de bovinos, corroboraron la actividad antiparasitaria de la especie.

Evaluación farmacológica de *Cucurbita moschata*, Duch.

Otra de las plantas evaluada con potencialidad como antiparasitaria (helmintiasis), lo constituyó la semilla de calabaza (*Cucurbita moschata* Duch). Se corroboró la actividad antihelmíntica de los infusos acuosos de la semilla (5, 10 y 15%) al emplear como modelo experimental *Lombricus terrestris* (lombrices de tierra).

2.2. 3. Estudios de preformulación de las plantas estudiadas para su uso como ingredientes farmacéuticos activos herbarios

Con la información aportada por los estudios químicos y farmacológicos se procedió a evaluar un ingrediente farmacéutico activo (polvo) obtenido de las partes aéreas de la *Boldoa purpurascens* (nitro blanco), la *Capraria biflora* (esclaviosa), el *Parthenium hysterophorus* (escoba amarga) y de la almendra de las semillas de *Cucurbita moschata* Duch, realizándose estudios de preformulación y analíticos que apoyaran los anteriores, con vistas a ser valorado su uso en la elaboración de formas farmacéuticas sólidas orales.

Estudios de preformulación de *Boldoa purpurascens* (nitro blanco).

Los estudios de preformulación se centraron en la evaluación de las propiedades tecnológicas (fluidez, compresibilidad) del polvo de la planta, con vistas a la elaboración de formas sólidas de dosificación. Se evaluaron los requerimientos tecnológicos que avalan la calidad tecnológica de las tabletas obtenidas a partir del follaje de la planta.

Estudios de preformulación de *Capraria biflora* (esclaviosa).

Se desarrollaron estudios que incluyeron la distribución del tamaño de partículas, densidad aparente y real, porosidad, ángulo de reposo y velocidad de flujo. El sólido pulverulento posee deficientes propiedades reológicas, lo que dificulta la elaboración de formas terminadas sólidas. El granulado de composición (gelatina 15%, lactosa 10% y almidón de patata 15%) presentó mejoras significativas con relación al polvo. Las cápsulas elaboradas a partir de esta variante constituyen una propuesta interesante para el posterior desarrollo de formulaciones.

Estudios de preformulación de *Parthenium hysterophorus* (escoba amarga).

Los estudios de preformulación, demostraron que el SP posee ligera higroscopicidad, elevado porcentaje de humedad residual, propiedades de flujo y estabilidad química limitadas. Los granulados con una composición de 35 % de SP, 5 % de polivinilpirrolidona y 60 % de excipiente (celulosa microcristalina o lactosa): granulados G e I, presentaron una calidad satisfactoria y son estables a 40 °C/75 % ± 5 % HR desde el punto de vista químico, físico y microbiológico, durante un año.

Estudios de preformulación de *Cucurbita moschata* (semillas de calabaza).

Se exponen, por primera vez, resultados de estudios de preformulación del polvo que servirán de base para la futura formulación de formas farmacéuticas con acción antihelmíntica. El ingrediente activo obtenido presenta propiedades físicas, químicas y tecnológicas que permiten su utilización en la elaboración de formas farmacéuticas con acción antihelmíntica.

Bibliografía.

1. Gibbs KP, Cripps D. Asthma. In: Walker R, Whittlesea C, editors. Clinical Pharmacy and Therapeutics. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2007. p. 367-85.
2. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Fower RJ. Anti-inflammatory and immunosuppressant drugs. Rang and Dale's Pharmacology. 6ta ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2007. p. 226-47.
3. Jalil S, Bozhanka Mikhovab, Rilka Taskovac, Maya Mitovab: In vitro Anti-inflammatory Effect of *Carthamus lanatus* L. Z. Naturforsch. 58c, 830Ð832 c(2003). Disponible en <http://www.znaturforsch.com>.
4. Okoli. C. O. Akah P. A and Ezugworie, U. Anti-inflammatory activity of extracts of root bark of *Securidaca longipedunculata* FRES (Polygalaceae) Afr. J. Trad. CAM c(2005) 2 (3): 54 63. Disponible en www.africanethnomedicines.net
5. Yoshikawa, T.; Naito X.2000. The role of neutrophis and inflammation in gastric mucosal injury. *Free Radic Res*, 33, pp.785-94.
6. Boffill, M.A.; Marcel, R.; Monteagudo, E.; Sánchez, C.; Díaz, L.; Iglesias, N.; 2007. Actividad gastroprotectora del fruto de la *musa sp ABB* sobre úlceras inducidas por etanol. *Medicentro*, 11(1).
7. Areces, A.E. 2000. Medicina verde, regalo de la naturaleza. *Revista Bohemia*, 38(82), pp. 21-49.
8. Foegh ML, Ramwell PW. The eicosanoids: prostaglandins, thromboxanes, leukotrienes, and related compounds. In: (B.G.Kartzung ed.). Basic and Clinical Pharmacology. 8th edition. Lange Medical Books/McGraw-Hill, New York. 2001; p. 311-325.